第 38 卷第 2 期
2018 年 1 月

生　态　学　报
ACTA ECOLOGICA SINICA

Vol.38,No.2
Jan.,2018

DOI: 10.5846/stxb201701180148

李周,赵雅洁,宋海燕,张静,陶建平,刘锦春.不同水分处理下喀斯特土层厚度异质性对两种草本叶片解剖结构和光合特性的影响.生态学报,2018,38(2):721-732.

Li Zhou, Zhao Yajie, Song H Y, Zhang J, Tao J P, Liu J C.Effects of karst soil thickness heterogeneity on the leaf anatomical structure and photosynthetic traits of two grasses under different water treatments.Acta Ecologica Sinica,2018,38(2):721-732.

不同水分处理下喀斯特土层厚度异质性对两种草本叶片解剖结构和光合特性的影响

李　周,赵雅洁,宋海燕,张　静,陶建平,刘锦春*

西南大学生命科学学院,三峡库区生态环境教育部重点实验室,重庆市三峡库区植物生态与资源重点实验室, 重庆　400715

摘要:为了探究不同水分处理下草本植物对喀斯特土层厚度变化的叶片形态建成和光合生理响应,以黑麦草(*Lolium perenne* L.)和苇状羊茅(*Festuca arundinacea* Schreb.)为研究对象,通过盆栽水分受控试验,研究了 3 种水分处理[正常供水(W_{ck}),减水 1 组(D1)和减水 2 组(D2)]下 3 种土层厚度[浅土组(S_S)、对照组(S_{CK})和深土组(S_D)]对两种草本叶片解剖结构和光合特性的影响。结果表明:(1)正常供水下(W_{ck}),黑麦草和苇状羊茅在浅土组(S_S)的气孔密度和气孔限制值(*Ls*)均显著高于对照组(S_{CK}),净光合速率(*Pn*)、胞间 CO_2浓度(*Ci*)和蒸腾速率(*Tr*)降低;在深土组(S_D),两种植物的气孔密度都有所下降,黑麦草的叶脉密度、*Pn* 和 *Tr* 均低于对照组,而苇状羊茅的叶脉密度和 *Pn* 表现出增加;(2)D1 水分条件下,黑麦草在浅土组的气孔密度较对照组增加,叶脉密度、*Pn* 和 *Tr* 均降低,而苇状羊茅的气孔密度有所降低,叶脉密度、*Pn* 和 *Tr* 未受到显著影响;在深土组中,黑麦草的气孔密度不变,叶脉密度增加,而 *Pn* 和 *Tr* 均降低;苇状羊茅的气孔密度降低,但叶脉密度、*Pn* 和 *Tr* 均升高;(3)D2 水分条件下,两种植物在浅土组的叶脉密度较对照组均增加,气孔密度、*Pn* 和 *Tr* 均受到抑制;在深土组,黑麦草的远轴面气孔密度较对照组下降,两种植物的其他指标未受到明显影响。可见,在不同水分条件下,植物的叶片解剖结构和光合特性对不同土层厚度的响应不一,且不同物种间也有差异。总体上随着水分减少,土层厚度降低对植物的光合抑制作用增强,而厚度增加对深根植物的光合促进作用和对浅根植物的光合抑制作用先增强后减弱。植物气孔和叶脉性状特征随水分条件的变化在一定程度上与叶面积和叶片宽度的变化有关。

关键词:喀斯特;土层空间异质性;叶脉;气孔;光合生理

Effects of karst soil thickness heterogeneity on the leaf anatomical structure and photosynthetic traits of two grasses under different water treatments

LI Zhou, ZHAO Yajie, SONG Haiyan, ZHANG Jing, TAO Jianping, LIU Jinchun*

Key Laboratory of Eco-environments in Three Gorges Reservoir Region (Ministry of Education), Chongqing Key Laboratory of Plant Ecology and Resources Research in Three Gorges Reservoir Region, School of Life Sciences, Southwest University, Chongqing 400715, *China*

Abstract: Congenitally slow soil development rates and acquired rocky desertification ensure a serious shortage of soil resources in karst areas. Coupled with the steep terrain, soil distribution is uneven with a high degree of heterogeneity in space in karst regions. In the karst depression, basin, and valley areas, soil thickness and soil distribution are continuous; however, in the hill slope area, soil is usually "rock soil" or is missing. Uneven distribution of karst soil also leads to obvious spatial heterogeneity of moisture. Global precipitation changes might aggravate heterogeneity of soil moisture in soils of different thicknesses. Plant morphogenesis is very sensitive to soil moisture, including the leaf veins that control water

基金项目:国家自然科学基金项目(31500399);重庆市自然科学基金项目(cstc2014jcyjA80016);教育部第 49 批留学回国人员科研启动基金项目

收稿日期:2017-01-18;　　**网络出版日期:**2017-09-14

* 通讯作者 Corresponding author.E-mail: jinchun@ swu.edu.cn

transport and utilization and the stomata that adjust the balance of water and CO_2. Simultaneously, photosynthesis that utilizes water and CO_2 as raw materials is also directly affected by soil moisture. Thus, exploring the responses of the leaf anatomical structure and photosynthetic traits of plants to water availability and soil heterogeneity in karst regions is necessary to understand how precipitation changes might affect plant growth and physiology in soils of different thicknesses. Herbaceous plants, especially grasses in karst regions, are most often affected by soil heterogeneity and water availability because they mainly utilize water and nutrients from the surface soil via their fibrous root system. Two graminaceous perennial grasses, *Lolium perenne* L. and *Festuca arundinacea* Schreb. were chosen for the present study. These two species are often chosen as pioneer plants for ecological restoration and reconstruction in karst regions because of their attributes of fast growth, strong adaptive ability, and high yield, which effectively promote economic development and assist to alleviate rural poverty in harsh karst regions. In the present study, three water treatments (W_{CK}: 40 mL/d, D1: 20 mL/d, and D2: 12 mL/d) were combined with three levels of soil thickness [shallow soil (S_S: 5 cm), control (S_{CK}: 15 cm), and deep soil (S_D: 30 cm)] in a factorial randomized design and measurements were obtained of leaf vein and stomata traits and several photosynthetic parameters. The following results were obtained: (1) Under normal water supply conditions (W_{CK}), the stomatal density and stomatal limitation (*Ls*) of *L. perenne* and *F. arundinacea* were significantly higher in the S_S group than in the S_{CK} group, and the two species net photosynthetic rate (*Pn*), intercellular CO_2 concentration (*Ci*), and transpiration rate (*Tr*) decreased. In the S_D group, the stomatal density of both species decreased, the leaf density, *Pn*, and *Tr* of *L. perenne* were lower than those in S_{CK}, and the leaf density and *Pn* of *F. arundinacea* increased. (2) Under D1 water treatment, the stomatal density of *L. perenne* in S_S was higher than that in S_{CK}, and leaf vein, *Pn*, and *Tr* decreased; however, the stomatal density of *F. arundinacea* in S_S showed some decrease, and the leaf vein, *Pn*, and *Tr* of *F. arundinacea* were not significantly affected. In the S_D group, the stomatal density of *L. perenne* did not change, the leaf vein increased, and the *Pn* and *Tr* were both decreased, while the stomatal density of *F. arundinacea* decreased and the leaf vein, *Pn*, and *Tr* increased. (3) Under D2 water treatment, the leaf veins of the two species increased in the S_S group as compared to that in S_{CK}, and their stomatal density, *Pn*, and *Tr* were suppressed. In the S_D group, compared to S_{CK}, the stomatal density of *L. perenne* decreased and the other parameters in both plants were not significantly affected. The results of the present study indicate that under different water conditions, the leaf anatomical structure and photosynthetic characteristics of the two plant species studied were different in response to the different thickness soils, with differences recorded between the different species. Overall, as the water content decreased, the inhibition that plant photosynthesis suffered was enhanced by a decrease of soil thickness, and the promotion effect that the deep root plant received and the inhibition that the shallow root plant suffered were first strengthened and then weakened by an increase in soil thickness. The variation of vein density and stomatal density with water content is related somewhat to the change of leaf area and leaf width.

Key Words: karst; spatial heterogeneity of soil; vein; stomata; photosynthetic physiology

喀斯特是自然环境中一种脆弱的生态环境系统,敏感度高,环境容纳量低,灾变承受阈值弹性小。缓慢的成土速率造成了喀斯特地区土壤资源缺乏的“先天性”缺陷[1],而近年来人为活动使得水土大量流失,导致“土荒”现象愈演愈烈。土壤资源的严重缺乏是造成喀斯特生态系统脆弱的基本原因。在土壤贫瘠的喀斯特地区,底层基石在结构上也极不规则,导致了土层分布在微观尺度上具有较大波动[2],造成土层分布在空间上的强烈异质性[3]。

喀斯特土层分布的空间异质性与其特有的“岩溶干旱”间存在着密不可分的关系[4]。植物的水分供应主要取决于降水和土壤储水,而土层厚度是土壤水分保蓄的关键[5]。朱守谦[6]发现,在贵阳花溪石灰岩山丘上,雨后连续晴 4d 后,土层较厚的石洞土壤含水量为 67.7%,而土层较浅的土面土壤含水量仅为 31.3%。可

见,喀斯特土层分布的空间异质性导致该地区的水分分布也具有高度空间异质性[7]。随着全球气候变化,降雨格局变化的问题逐渐凸显,我国喀斯特所在的亚热带地区的降雨量出现下降趋势[8-10]。在气候变化过程中,土层厚度对土壤水分和养分在短期内的有效性具有重要的缓冲作用。有研究认为,在一些浅土区域,由于自身水分涵养能力低,其土壤水分状况直接受到降雨变化的影响,而在一些深土区域,较为充足的土壤资源有利于其土壤水分状况在降雨和蒸发过程中得到有效缓冲,在气候变化过程中具有相对稳定的微环境[11]。

在植物生长发育的早期,土壤水分状况直接影响到植物的形态建成[12],并且这种影响是不可逆的。对于大部分植物而言,在中度干旱胁迫下,气孔密度增加[13-14],而在重度干旱胁迫下,气孔密度减少[15]。Zhao 等[16]认为水分亏缺刺激了气孔生成,导致气孔密度增加,但气孔大小和孔径却降低,但 Sam 等[17]却觉得干旱胁迫下植物较高的气孔密度与叶面积减小有关。此外,在干旱环境中,植物通常由于水分胁迫而引起木质部栓塞,导致木质部导水率下降,较高的叶脉密度被认为是一种有效地抗旱策略[18],因为叶脉密度越高,植物的水分运输途径越多,有利于避开栓塞化的木质部运输水分到蒸腾部位的细胞。

叶脉和气孔性状与植物的光合能力间存在着一定的协同变异关系[19]。较高的叶脉密度和较低的叶脉间距被认为有利于支持较高的净光合速率[20-21],植物叶片气孔密度越大,有利于短时间内充分利用有效水分进行光合作用[22]。因此,植物的气孔、叶脉性状和光合能力对土壤水分状况都有着较为直接的响应表现。另一方面,植物的光合作用还与土壤资源密切相关。土壤资源匮乏造成植物生长所需的养分不足,影响植物的水分运输效率[23],同时也进一步加重干旱胁迫对植物的影响,导致植物光合作用降低。

乔木和灌木具有发达的木质根系,能够深入到深层岩石裂隙中吸取水分和养分,而草本植物通常具有较浅的肉质根系,主要利用地表有土壤覆盖的斑块生长[7],所以在喀斯特地区,草本植物的生长更容易受到土层厚度的影响。黑麦草(*Lolium perenne* L.)和苇状羊茅(*Festuca arundinacea* Schreb.)均为禾本科多年生草本植物,须根发达,但二者具有不同的根深,黑麦草的根深大致在 25 cm 左右,而苇状羊茅的最大根深能达到 40 cm[24-25]。此外,黑麦草和苇状羊茅都具有很强的适应能力,在喀斯特地区的引种实验中综合性状排名靠前,广泛应用于喀斯特生态恢复工作中[26-27]。

目前普遍认为,水分是喀斯特生态系统恢复中最重要的限制因子,有部分研究探讨了喀斯特地区水分分布与土层厚度间的关系,但是很少有研究关注喀斯特土层空间异质性所导致的生境差异直接对植物的生长生理过程所产生的影响。在正常供水条件下,生境土层厚度的差异会对植物的形态建成(叶片解剖结构)和光合能力产生怎样的影响?在全球降雨变化的大背景下,随着水分减少,土层厚度对植物的影响是否存在规律性的变化,若存在,是什么样的规律?对于这些问题,我们目前仍然无从知晓。因此,本试验选择黑麦草和苇状羊茅作为试验材料,通过盆栽模拟实验,探究不同水分处理下两种植物叶片解剖结构和光合生理特性对土层厚度的响应,以验证以下假设:(1)水分充足条件下,两种植物在浅土组受水分不足的刺激,具有更高的叶脉密度和气孔密度,光合作用受到抑制;在深土组中,具有较低的叶脉密度和气孔密度,光合作用受到促进;(2)随着水分减少,两种植物在浅土组受到的抑制作用和在深土组受到的促进作用逐渐增强;(3)与浅根植物黑麦草相比,无论在水分充足还是在水分不足的条件下,深根植物苇状羊茅对深土组都表现出更强的适应性。

1　材料与方法

1.1　试验材料

本试验选择的供试材料为多年生黑麦草(*L. perenne*)和苇状羊茅(*F. arundinacea*),供试土壤是来自重庆市中梁山的黄色石灰土,基本理化性状:pH 为 7.4±0.14,有机质为 0.34%±0.02%,全氮为(0.28±0.03) g/kg,全磷为(0.39±0.02) g/kg,全钾为(23.7±3.22) g/kg。

1.2　研究方法

试验设置了 3 个土层厚度水平,通过 3 种底面积相同但高度不同的长方体栽培容器实现,容器底部设有 5 个小孔,以便多余水分流走。本试验所采用的黑麦草和苇状羊茅两种植物均为须根系植物,根系主要分布

在 15 cm 以内的表土层[28],因此设置 15 cm 厚的土层为对照组(S_{CK}),设置 5 cm 和 30 cm 分别为浅土组(S_S)和深土组(S_D), 3 种容器的底面积均为 0.01 m^2,3 个组依次装入 500 g、1500 g 和 3000 g 重的干土。2015 年 1 月 14 日,在西南大学生态园内进行播种,于 2015 年 4 月 4 日,选取长势一致的黑麦草和苇状羊茅幼苗移植于容器内,每盆 2 株。将所有盆栽试验用苗置于西南大学生态实验园地中(海拔高度 249 m)进行相同光照管理适应。

2015 年 4 月 14 日开始进行水分处理。重庆地区 1981 年至 2011 年这 30 年间 4—6 月每月平均降雨量 119.58 mm/m^2,按照本试验具体容器规格计算出每 0.01 m^2的面积每日降雨量为 40 mL(高度为 4 mm)。因此,设置正常供水组(W_{ck})的供水量为 40 mL/天,减水 1 组(D1)和减水 2 组(D2)在正常供水组水平上分别减少 50%(20 mL)和 70%(12 mL)。每 3 天浇一次水(W_{ck}组 120 mL/次;D1 组 60 mL/次;D2 组 36 mL/次)。

此外,每种水分处理和土层厚度均单独设置 3 个无植物生长的空白处理,进行和上述试验同步的水分处理,用于土壤含水量的测定。土样采集是在每次水分处理之前,通过五点取样法在容器的 4 个角和中间位置的不同土层厚度采集土壤样本混合均匀,放入铝盒中,带回实验室用称重法进行土壤含水量测定,并根据公式:土壤贮水量=土壤绝对含水量×土壤容重×土壤体积,计算不同水分处理下不同厚度土层的贮水量。

1.3 指标测量

水分处理 69 d(22 次)后,进行以下指标测定:

(1)气孔密度和大小:采用印迹法获取气孔[29],在叶片近轴面和远轴面的中央位置(避开主脉)均匀地涂上无色透明指甲油,待其干透后撕下,制成临时装片。于光学显微(Nikon edipse 80i)下放大 40 倍后拍照,然后在 Photoshop CS4 软件中统计每张照片中的气孔数目,并测量气孔面积(气孔器面积,包括保卫细胞和副卫细胞)。每个处理选择 5 株植物,每株植物在相同部位取成熟健康叶 1 片制作装片,每张装片随机选择 3 个视野拍照,对每张照片中的气孔数目进行统计,并随机选择 3 个气孔进行气孔大小测量。气孔密度(Stomatal density)用单位面积(mm^2)的气孔数量表示[30];

(2)叶脉密度:用 5%的 NaOH 溶液浸泡叶片 4—5 d,叶片会逐渐褪色直至透明(每天更换浸泡液)。再用去离子水冲洗,经番红-固绿染色后制成临时装片,在光学显微镜下放大 10 倍后拍照。在 Photoshop CS4 软件中测量每张照片中的叶脉总长度。每个处理选取 5 片叶子,每片叶子拍摄 3 个视野。叶脉密度(Vein density)用单位面积(mm^2)的叶脉总长度(mm)表示[31];

(3)光合参数:每个处理选择 3 株植株,每株选取相同部位的成熟健康叶 1 片,使用便携式光合仪 LI-6400(Li-Cor 6400,Li-Cor Inc,USA),于上午 9:30—12:00 进行光合测定。测定参数包括:净光合速率(Pn)、气孔导度(Gs)、胞间 CO_2浓度(Ci)、蒸腾速率(Tr),此外,气孔限制值(Ls)根据公式($Ls=1-Ci/Ca$)计算得到[32]。公式中的 Ca 为大气中 CO_2浓度。研究表明,黑麦草和苇状羊茅的光饱和点大约在 800—1200 μmol m^{-2} s^{-1}的范围内[33-35],在固定光照为 1000 μmol m^{-2} s^{-1}时,两种植物均表现较强的光合能力,因此本试验光合测定的光照强度设定为 1000 μmol m^{-2} s^{-1}。

1.4 数据处理

本研究的数据处理与统计分析均采用 SPSS 17.0 和 Microsoft Office Excel 2007 软件完成。采用 Three-way ANOVA 分析物种、水分和土层厚度 3 种因素对植物的各叶片解剖结构特征和光合参数的影响;利用 One-way ANOVA 分析相同水分条件下同一物种各叶片解剖结构特征和光合指标在不同土层厚度间的差异,$P<0.05$ 表示差异显著。利用 Origin 8.6 软件作图。

2 结果

2.1 土壤水分状况

在正常水分处理下(W_{ck}),浅土组和对照组的土壤含水量分别为 21.3%和 20.28%,均属于偏湿生境,深土组的土壤含水量(17.03%)在适宜范围内[36],浅土组和对照组的土壤含水量无显著差异,但二者显著高于深

土组(表 1);在 D1 水分处理中,3 种厚度土层的土壤含水量在 12.82%—14.46%之间,均为轻旱生境,但浅土组的土壤含水量显著高于对照和深土组;在 D2 水分下,3 种厚度土层的土壤含水量在 7.29%—9.05%之间,均属于中旱水平,深土组和对照组的土壤含水量显著高于浅土组。此外,在 3 种水分处理下,浅土组的土壤贮水量均显著低于对照组,而深土组均显著高于对照组。两因素方差分析结果表明,土壤含水量和贮水量受水分和土层厚度两种因素交互作用的影响而存在显著差异(表 2)。

表 1　不同水分条件下不同厚度土层的土壤水分状况(均值±标准误)

Table 1　The soil water regime of different thickness of soil under different water treatments (M±SD)

水分处理 Water treatment	土壤含水量 Soil moisture content/%			土壤贮水量 Soil water storage/g		
	S_S	S_{CK}	S_D	S_S	S_{CK}	S_D
W_{ck}	21.3±1.16a	20.28±0.4a	17.03±0.88b	128.44±1.81c	340.95±12.31b	590.92±41.1a
D1	14.46±0.95a	13.89±0.55b	12.82±0.37b	110.14±10.9c	212.67±11.1b	389.84±34.77a
D2	7.29±9.05b	9.05±0.41a	9.03±0.63a	33.71±0.57c	158.84±4.06b	

S_S:浅土组,shallow soil;S_{CK}:土层厚度对照组,soil control;S_D:深土组,deep soil;W_{ck}:正常供水组,water control;D1:减水 1 组, water reduction group 1;D2:减水 2 组,water reduction group 2;不同小写字母表示相同水分处理下不同土层厚度间差异显著(P<0.05)

表 2　土壤水分状况的两因素方差分析

Table 2　Results of Two-way ANOVA test for the effects of soil thickness and water treatment on soil water regime

方差来源 Sources of variation	F 土层厚度 Soil thickness	水分处理 Water treatment	土层厚度×水分 Soil thickness×water treatment
df	2	2	4
土壤含水量 Soil moisture content	9.31**	131.54***	7.87**
土壤贮水量 Soil water storage	57.46***	198.8***	6.13**

ns 未达到显著水平(P>0.05), *, ** 和 *** 分别代表 P<0.05, P<0.01 和 P<0.001

2.2　叶片解剖结构特征

2.2.1　气孔密度

在浅土组,黑麦草近轴面气孔密度在正常水分条件下(W_{ck})较对照组显著增加 34.81%,在 D1 水分下也显著高于对照组,增加幅度为 41.49%,但在 D2 水分条件下,却较对照组显著降低 45.79%。在深土组,黑麦草近轴面气孔密度在 3 种水分条件下均与对照组无显著差异。黑麦草在浅土组的远轴面气孔密度在 W_{ck}、D1 和 D2 这 3 种水分条件下均与对照组无显著差异,而黑麦草在深土组的远轴面气孔密度在 W_{ck}和 D1 水分下与对照组无显著差异,但在 D2 水分条件下,较对照组显著降低 32.56%(图 1)。

在浅土组,苇状羊茅近轴面气孔密度在正常水分条件下(W_{ck})较对照组显著增加 22.89%,在 D1 水分下显著降低 12.74%,在 D2 水分处理中与对照组无显著差异。在深土组,苇状羊茅近轴面气孔密度在 W_{ck}、D1 和 D2 这 3 种水分处理中均与对照组无显著差异。苇状羊茅在浅土组的远轴面气孔密度在 W_{ck}水分处理中较对照组显著增加 24.65%,在 D1 水分下与对照组无显著差异,在 D2 水分处理中显著降低 14.66%。在深土组中,苇状羊茅远轴面气孔密度在 W_{ck}水分下显著降低 12.33%,在 D1 水分下显著降低 14.47%,在 D2 水分下与对照组无显著差异(图 1)。

三因素方差分析结果表明,两种植物的近轴面和远轴面气孔密度之间均存在显著差异,且植物的近轴面和远轴面气孔密度受物种、水分和土层厚度三因素交互作用的影响存在显著差异(表 3)。

2.2.2　叶脉密度

在浅土组,黑麦草的叶脉密度在 W_{ck}和 D1 水分条件下与对照组无显著差异,在 D2 水分下较对照组显著增加 30%。在深土组,黑麦草叶脉密度在 W_{ck}水分条件下较对照组显著降低 7.14%,在 D1 水分处理下显著增

加 12.6%,在 D2 水分下与对照组无显著差异(图 2)。

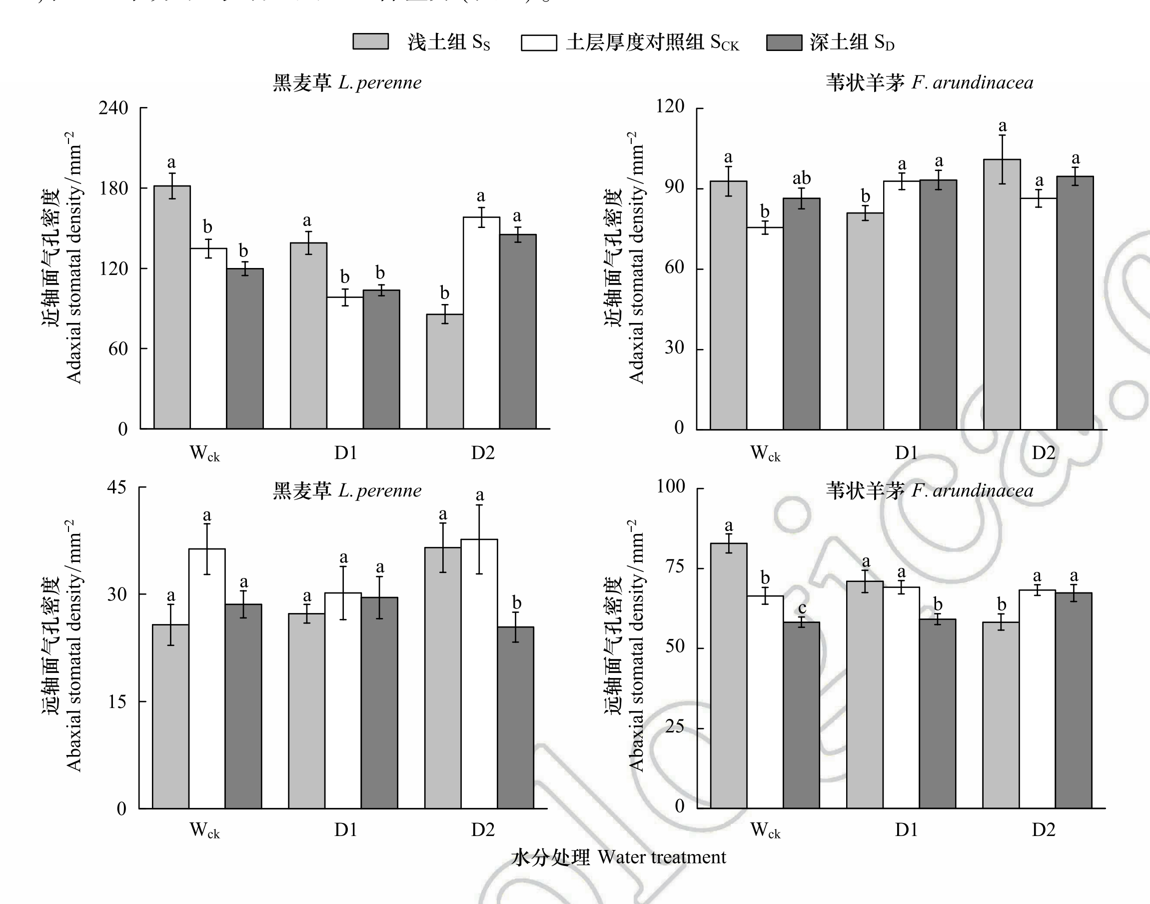


图 1　不同水分处理、不同土层厚度下黑麦草和苇状羊茅的近轴面和远轴面气孔密度(均值±标准误)

Fig.1　The adaxial and abaxial stomatal density of *L. perenne* and *F. arundinacea* under different soil thickness and water treatments (M±SD)

S_S:浅土组,shallow soil;S_{CK}:土层厚度对照组,soil control;S_D:深土组,deep soil;W_{ck}:正常供水组,water control;D1:减水 1 组, water reduction group 1;D2:减水 2 组,water reduction group 2;柱上的小写字母表示相同水分处理下不同土层厚度间差异显著(P<0.05)

表 3　植物叶片解剖结构参数的三因素方差分析

Table 3　Results of Three-way ANOVA test for the effects of species, soil thickness and water treatment on leaf anatomical structure parameters

方差来源 Source of variation	F						
	物种 Species	水分 Water	土层厚度 Soil thickness	水分×物种 Water×species	水分×土厚 Water×soil thickness	物种×土厚 Species×soil thickness	物种×水分×土厚 Specie×water×soil thickness
df	1	2	2	4	4	2	4
近轴面气孔密度 Adaxial stomatal density	220.35***	15.47***	7.02**	15.77***	12.46***	5.00**	18.57***
远轴面气孔密度 Abaxial stomatal density	398.63***	ns	5.90**	ns	ns	ns	4.86**
叶脉密度 Vein density	2602.91***	5.53**	16.81***	13.33***	38.46***	12.10***	7.17***

在浅土组,苇状羊茅叶脉密度在 W_{ck} 和 D1 水分处理中均与对照组无显著差异,在 D2 水分条件下较对照组显著增加 16.9%。在深土组,苇状羊茅叶脉密度在 W_{ck} 水分条件下较对照组显著增加 9.9%,在 D1 水分处理中显著增加 20.8%,在 D2 水分条件下与对照组无显著差异(图 2)。

三因素方差分析结果表明,两种植物的叶脉密度间存在显著差异,并且物种、水分和土层厚度三因素的交互作用对植物叶脉密度产生了显著影响(表 3)。

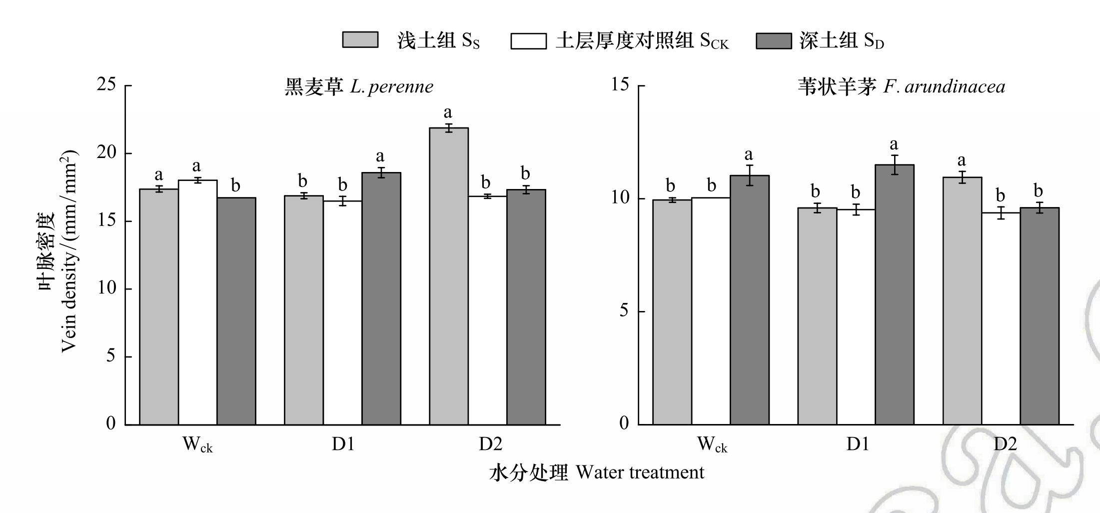


图 2　不同水分处理、不同土层厚度下黑麦草和苇状羊茅的叶脉密度(均值±标准误)

Fig.2　The vein density of *L. perenne* and *F. arundinacea* under different soil thickness and water treatments (M±SD)

2.3　光合特性

2.3.1　净光合速率 *Pn*

黑麦草在浅土组的净光合速率 *Pn* 在 3 种水分条件下均低于对照组,在正常水分条件下(W_{ck})显著降低 27.3%,在 D1 水分下显著降低 30.7%,在 D2 水分下,黑麦草在浅土组的 *Pn* 较对照组降低 17.7%,但二者间的差异不显著。在深土组,黑麦草的 *Pn* 在 W_{ck} 水分下较对照组显著降低 22.1%,在 D1 水分下显著降低 30.6%,在 D2 水分下,黑麦草在深土组的 *Pn* 较对照组增加了 27.9%,二者间差异不显著,但浅土组和深土组间差异显著(图 3)。

在浅土组,苇状羊茅的净光合速率 *Pn* 在 W_{ck} 水分条件下较对照组降低了 26.4%,但二者间差异不显著,在 D1 水分下与对照组无显著差异,在 D2 水分下显著下降 51.9%。在深土组,苇状羊茅的 *Pn* 在 W_{ck} 水分条件下增加了 58.5%,但与对照组的差异不显著,在 D1 水分处理中显著增加了 127.9%,在 D2 水分条件下与对照组无显著差异(图 3)。

三因素方差分析结果表明,两种植物的净光合速率存在显著差异,并且物种、水分和土层厚度三因素的交互作用对植物净光合速率产生了显著影响(表 4)。

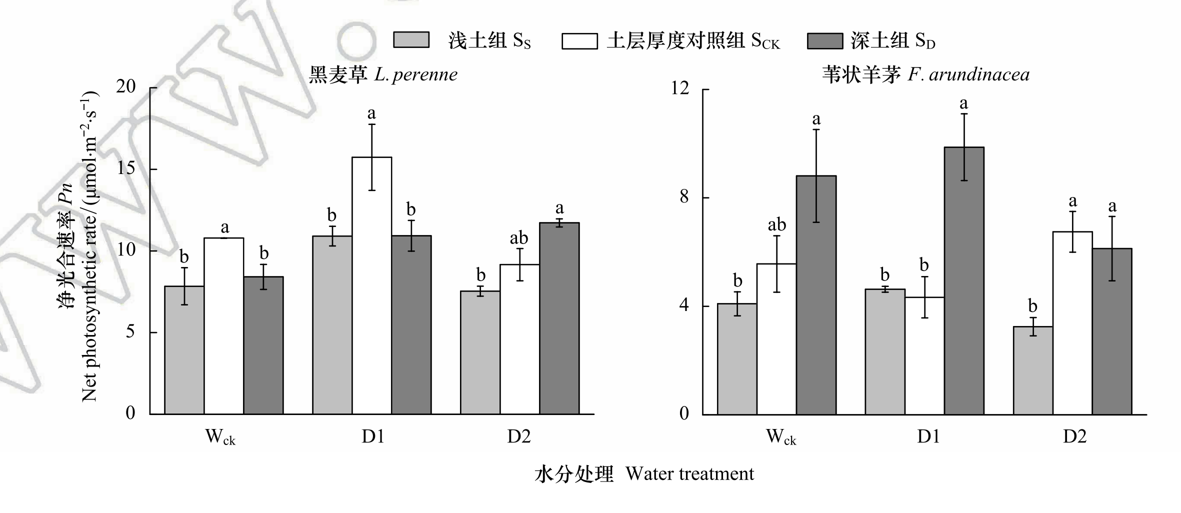


图 3　不同水分处理、不同土层厚度下黑麦草和苇状羊茅的净光合速率 ***Pn***(均值±标准误)

Fig.3　The net photosynthetic rate(*Pn*) of *L. perenne* and *F. arundinacea* under different soil thickness and water treatments (M±SD)

表 4 植物光合参数的三因素方差分析

Table 4 Results of Three-way ANOVA test for the effects of species, soil thickness and water treatment on photosynthetic parameters

方差来源 Source of variation	*df*	*F*			
		净光合速率 *Pn* Net photosynthetic rate	胞间 CO_2浓 *Ci* Intercellular carbon dioxide	蒸腾速率 *Tr* Leaf transpiration rate	气孔限制值 *Ls* Stomatal limitation
物种 Species	1	75.86***	96.64***	68.87***	25.24***
水分 Water	2	5.97**	ns	ns	ns
土层厚度 Soil thickness	2	12.76***	ns	23.36***	ns
水分×物种 Water×species	2	3.90*	12.49***	17.16***	ns
水分×土厚 Water×soil thickness	4	ns	4.95**	8.33***	3.03*
物种×土厚 Species×soil thickness	2	5.88**	ns	ns	ns
物种×水分×土厚 Species×water×soil thickness	4	5.44**	2.64*	ns	ns

2.3.2 胞间 CO_2浓度 *Ci*、蒸腾速率 *Tr* 和气孔限制值 *Ls*

在浅土组，正常水分条件下(W_{ck})，黑麦草的胞间 CO_2浓度(*Ci*)和蒸腾速率(*Tr*)较对照组分别下降17.7%和 25.2%，气孔限制值(*Ls*)与对照组相比显著增加 37.5%；在 D1 水分下，黑麦草的 *Ci* 与对照组无显著差异，*Tr* 和 *Ls* 与对照组相比分别显著降低 19.4%和 27.8%；在 D2 水分下，黑麦草的 *Ci* 和 *Tr* 均与对照组无显著差异，*Ls* 显著降低了 23.8%。在深土组，W_{ck} 水分条件下，黑麦草的 *Ci* 和 *Ls* 均与对照组无显著差异，*Tr* 降低 10.6%，但与对照组的差异不显著；在 D1 水分下，*Ci* 和 *Ls* 与对照组无显著差异，*Tr* 显著降低了 28.6%；在 D2 水分下，*Ci*、*Tr* 和 *Ls* 均与对照组无显著差异(图 4)。

在浅土组，正常水分条件下(W_{ck})，苇状羊茅的胞间 CO_2浓度(*Ci*)和蒸腾速率(*Tr*)较对照组分别显著下降 18%和 56.8%，气孔限制值(*Ls*)与对照组无显著差异；在 D1 水分下，*Ci* 显著增加 21%，*Ls* 显著降低 32.4%，*Tr* 与对照组无显著差异；在 D2 水分下，*Tr* 较对照组显著下降 57.7%，*Ci* 和 *Ls* 与对照组无显著差异。在深土组，苇状羊茅的 *Ci*、*Tr* 和 *Ls* 在 W_{ck}、D1 和 D2 这 3 种水分条件下均与对照组无显著差异(图 4)。

三因素方差分析结果表明，两种植物的胞间 CO_2浓度、蒸腾速率和气孔限制值均存在显著差异，物种、水分和土层厚度三因素的交互作用对植物的胞间 CO_2浓度、蒸腾速率和气孔限制值未产生显著影响，但水分和土层厚度两因素的交互作用对以上 3 个光合参数产生了显著影响(表 4)。

3 讨论

气候与植被间的相互作用受到土壤过程的调节，土层厚度被认为是一个复合因子，在土壤养分、水分和地下空间等方面扮演重要角色[37-39]。在喀斯特地区，土壤的不连续分布使得该地区的土壤水分状况对降雨变化的响应存在着强烈的空间异质性，这种异质性使得生长在不同小生境中的植物具有不同的适应性特征。

3.1 正常供水下(W_{ck})，土层厚度对两种草本叶片解剖结构和光合作用的影响

在正常供水条件下(W_{ck})，不同厚度土层间的土壤含水量在很大程度上由其贮水能力的大小和蒸发作用的强弱决定。在试验中，浅土组虽然贮水能力弱，但由于土量少，单位土壤体积获得的水分多，且外界水分供给连续，使得其具有较高的土壤含水量，但总的贮水量仍然显著低于对照组。在浅土组，两种植物的叶脉密度与对照组没有明显差异，但黑麦草的近轴面气孔密度和苇状羊茅的两面气孔密度显著增加。王学臣等[40]发现植物气孔对水分亏缺非常敏感，水分胁迫时，在植物地上部尚未表现出任何可检测的水分状况变化时，气孔性状就已表现出受抑制的现象。浅土组水分的不足可能会刺激两种植物气孔的发育和生成[16]，从而使其具有较高的气孔密度，而两种植物在浅土组叶面积的减少也可能是导致二者在浅土组表现出气孔密度增加的原

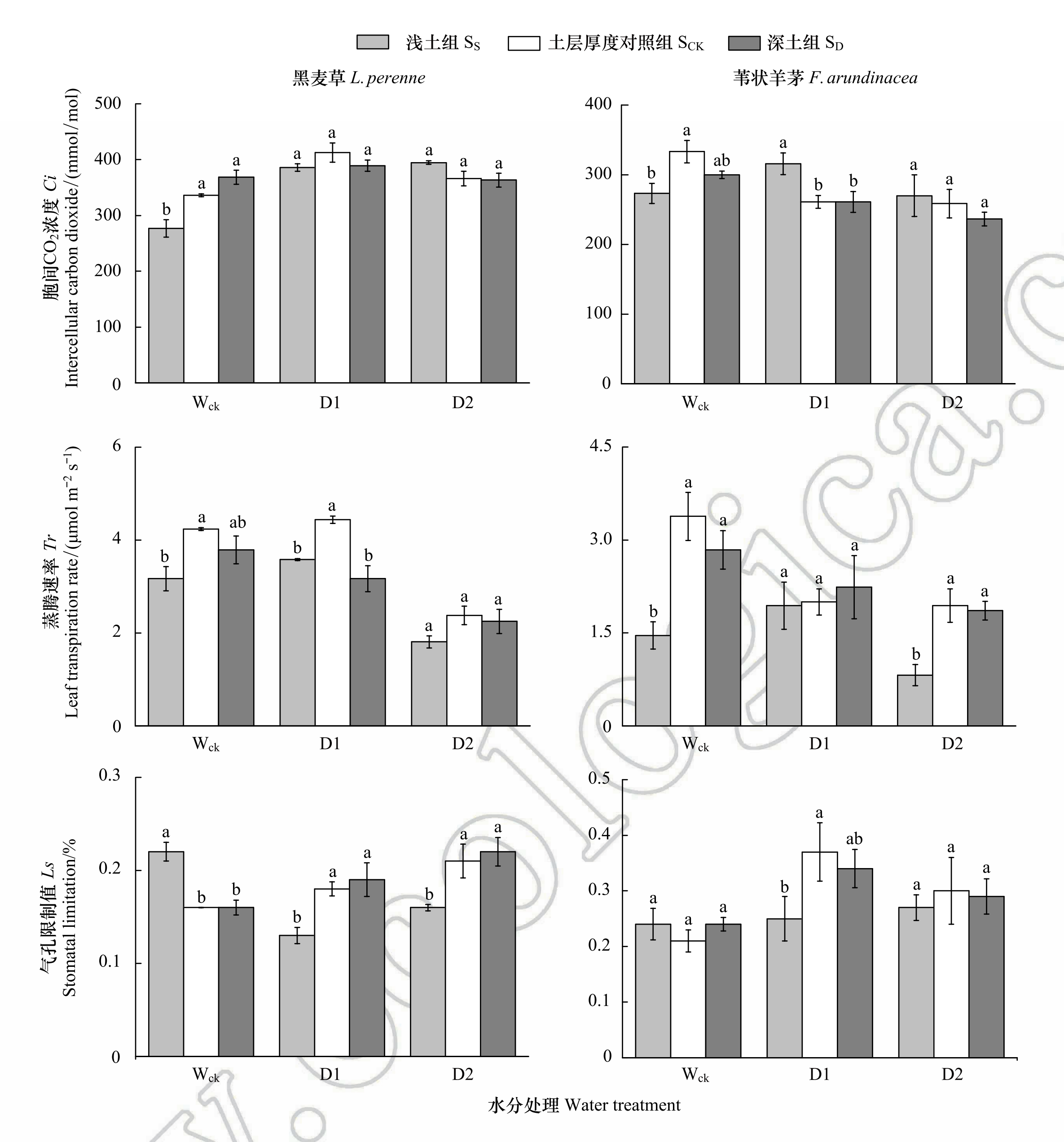


图 4　不同水分处理、不同土层厚度下黑麦草和苇状羊茅的胞间 CO_2浓度 *Ci*、蒸腾速率 *Tr* 和气孔限制值 *Ls*(均值±标准误)

Fig.4　The intercellular carbon dioxide (*Ci*)**, leaf transpiration rate** (*Tr*) **and stomatal limitation** (*Ls*) **of *L. perenne* and *F. arundinacea* under different soil thickness and water treatments** (M±SD)

因。本研究进行植物光合参数的测定时,已经进行了 69 天的水分处理,植物生长已经进入到旺盛时期,对水分的需求量较大,浅土组的土壤水分贮藏显然不能满足植物正常的生长和蒸腾需求,所以两种植物在浅土组的气孔限制值 *Ls* 均有不同程度地升高,在减少水分散失的同时增加了 CO_2进入叶片细胞的阻力,导致胞间 CO_2浓度 *Ci* 和蒸腾速率 *Tr* 的下降,使得净光合速率 *Pn* 降低,与假设一致。

在正常供水条件下(W_{ck}),深土组较大的土壤体积(较多的土量)导致其单位土壤体积获得的水分相对较少,土壤含水量显著低于对照组,但仍在适宜植物生长的范围之内,并且深土组总的土壤贮水量显著高与对照组。在深土组,黑麦草的近轴面和远轴面气孔密度和叶脉密度均不同程度地低于对照组,这可能与其叶面积和叶片宽度的增加有关。而气孔密度和叶脉密度的降低直接影响到植物水分供应和散失,所以黑麦草在深土组的蒸腾速率表现出低于对照组的情况。此外,在垂直方向上,随着土层深度的增加,土壤含水量越大[23]。因此在深土组中,水分主要分布在较深层的土壤中,所以在一定程度上增加了黑麦草对水分利用的难度,也可

能导致蒸腾速率的下降。并且有学者认为气孔密度越大,越有利于植物在短时间内充分利用有效水分进行光合作用[41]。宋丽清等[20]发现较高的叶脉密度有利于支持较高的净光合速率。因此,尽管黑麦草在深土组的气孔限制值和胞间 CO_2浓度与对照组并无显著差异,但叶脉密度和气孔密度下降而引起植物水分运输和利用的改变,最终使得黑麦草在深土组的净光合速率低于对照组。

在深土组,苇状羊茅的近轴面气孔密度与对照组无显著差异,而远轴面的气孔密度显著降低,相比于近轴面,远轴面的光强较弱[42],植物远轴面的蒸腾速率也较低[20],而植物的气孔密度与气孔导度间具有负相关关系,因此苇状羊茅远轴面气孔密度的降低在促进其远轴面对 CO_2吸收的同时又避免了过多的水分散失。之前的研究普遍认为植物在水分条件较好的生境中具有较低的叶脉密度,在干旱生境中通过发展比较密集的维管束,增强植物的疏导能力和支撑能力[41]。而在本研究中,两种植物在 D2 水分的浅土组具有较高的叶脉密度,并且伴随着叶片宽度的显著降低,因此,植物在干旱生境中表现出的较高的叶脉密度可能与叶片宽度的减小有关。而在正常供水条件下(W_{ck}),苇状羊茅在深土组的叶脉密度和叶片宽度均显著地高于对照组,并且在本研究中多次发现两种植物在水分条件较好的深土组中(W_{ck}和 D1 水分下)具有更高的叶脉密度和叶片宽度,与之前一些研究的结果不符,造成这种结果的具体原因还有待探究。正常供水条件下,苇状羊茅在深土组的胞间 CO_2浓度、蒸腾速率和气孔限制值均与对照组无显著差异,说明对照组和深土组良好的土壤水分条件都能很好地满足苇状羊茅生长和蒸腾对水分的需求,因此,在两种土层厚度生境中(S_{CK}和 S_D)植物自身具有相似的水分条件,因而具有相似的气体调节表现。而苇状羊茅在深土组表现出一定程度地净光合速率增加,可能与深土组更高的养分可利用性有关。

3.2 轻度缺水时(D1),土层厚度对两种草本叶片解剖结构和光合作用的影响

在 D1 水分条件下,由于水分减少,各个厚度土层的土壤水分状况既受到自身水分贮藏能力的影响,也受到外部供水的制约。3 种厚度的土层都属于轻旱生境,浅土组较少的土量使其土壤含水量仍显著高于对照组,但贮水量显著低于对照组。相比于对照组,浅土组更为严重的干旱胁迫刺激了黑麦草的气孔发育,其近轴面气孔密度显著地高于对照组。并且,浅土组严重的干旱胁迫导致黑麦草的光合器官受损,遭到不可逆的破坏,气孔限制值显著降低,较低的土壤水势使得黑麦草在浅土组的蒸腾速率也显著低于对照组,最终导致净光合速率显著下降。苇状羊茅在浅土组的近轴面气孔密度显著降低,李海波[43]也发现,随着干旱胁迫加重,水稻的气孔密度先增加后降低。严重水分胁迫时,光合作用受到严重影响,减少了植株能量供应,抑制气孔细胞的分裂生长和分化,导致气孔密度下降;另一方面严重干旱胁迫还会使植物体内抗氧化酶的含量急剧下降,而活性氧含量增加较多,无法清除,细胞过早衰老死亡,从而使气孔绝对数量减少,气孔密度下降。而近轴面气孔密度的减少也避免了植物过多的气孔直接暴露在直射的太阳光下,可以有效地减少水分散失。叶片水势可能受干旱胁迫的影响而降低[44],导致气孔对气体进出的控制力下降,气孔限制值显著降低,胞间 CO_2浓度显著升高。苇状羊茅在浅土组的蒸腾速率与净光合速率均与对照组没有显著差异,可能与苇状羊茅较高的抗旱性有关[45]。

在深土组,黑麦草较浅的根系不能有效地利用深层土壤中的水分,所以相比于对照组,黑麦草在深土组获取水分的难度增加,而叶脉密度的显著增加也从侧面印证黑麦草在深土组受到一定程度的水分亏缺的影响。黑麦草在浅土组通过增加气孔限制值和降低蒸腾速率来保存体内有限的水分,但受水分不足的影响,净光合速率仍出现显著地降低。在深土组,苇状羊茅的近轴面气孔密度无明显变化,远轴面气孔密度显著下降,叶脉密度与叶片宽度均显著高于对照组,说明深土组的土壤水分条件比对照组更利于苇状羊茅的生长。在轻度干旱的深土组中,苇状羊茅较大的根深有助于其从深层次的土壤中吸取水分供自身生长和蒸腾,较高的叶脉密度加强了其水分运输的能力,所以苇状羊茅在深土组的气孔限制值略微降低,蒸腾速率略微高于对照组,净光合速率表现出显著增加。

3.3 重度缺水时(D2),土层厚度对两种草本叶片解剖结构和光合作用的影响

在 D2 水分处理中,水分严重不足,外部供水的多少成为影响 3 种厚度土层土壤水分最为重要的因素。3

种厚度土层的水分状况均为中旱水平,但可能由于不同厚度土层的土壤蒸发作用强度不同,使得彼此土壤含水量之间存在一定差异,浅土组的土壤含水量表现出显著降低,而深土组与对照组无显著差异。此外,浅土组的土壤贮水量也显著地低于对照组,所以植物在浅土组遭受的干旱胁迫更为强烈。黑麦草在浅土组受严重干旱胁迫的影响,近轴面气孔密度显著降低,叶脉密度显著增加,严重的水分胁迫使得黑麦草的光合结构遭到破坏,气孔限制值显著降低,最后导致净光合速率也出现明显下降。苇状羊茅在浅土组的近轴面气孔密度与对照组无明显差异,远轴面气孔密度显著降低,叶脉密度表现出显著地增加,说明苇状羊茅在浅土组遭受到较为严重的干旱胁迫,蒸腾速率和净光合速率表现出显著地下降。

在 D2 水分处理中,深土和对照组间的土壤含水量并没有明显差异。在研究中我们发现,由于外部供水太少,在干燥的土壤中,水分很难渗透到深层的土壤中去,而土壤表面的蒸腾作用太强导致水分大量散失,所以在对照和深土组中,水分主要集中分布在 5—15 cm 的土层中。在深土组,除了黑麦草的远轴面气孔密度显著下降,两种植物的其它叶片解剖结构和光合生理指标在对照和深土组间均没有显著差异。说明在水分极度缺乏的情况下,土层厚度的增加在缓解干旱胁迫对植物的影响方面并没有明显的作用。

4　结论

生境土层厚度的差异直接影响着植物的叶片解剖结构和光合特性,并且,随着水分减少,土层厚度对植物的影响表现出规律性的变化。水分充足条件下,植物光合作用在浅土中受到抑制,在深土中,深根植物(苇状羊茅)的光合作用受到促进,而浅根植物(黑麦草)受到轻微抑制;随着水分减少,浅土对植物的抑制作用增强,深土对深根植物的促进作用和对浅根植物的抑制作用先增强后减弱;植物气孔和叶脉性状特征随水分条件的变化在一定程度上与叶面积和叶片宽度的变化有关。因此,喀斯特地区土层厚度的空间异质性对植物的形态和光合特性具有重要作用,并且影响着生境中的植物对外部水分条件的响应表现。

参考文献(References):

[1] 王世杰, 季宏兵, 欧阳自远, 周德全, 郑乐平, 黎廷宇. 碳酸盐岩风化成土作用的初步研究. 中国科学 D 辑: 地球科学, 1999, 29(5): 441-449.

[2] Fridley J D, Grime J P, Askew A P, Moser B, Stevens C J. Soil heterogeneity buffers community response to climate change in species-rich grassland. Global Change Biology, 2011, 17(5): 2002-2011.

[3] 凡非得, 王克林, 熊鹰, 宣勇, 张伟, 岳跃民. 西南喀斯特区域水土流失敏感性评价及其空间分异特征. 生态学报, 2011, 31(21): 6353-6362.

[4] 李周, 高凯敏, 刘锦春, 梁千慧, 陶建平. 西南喀斯特地区两种草本对干湿交替和 N 添加的生长响应. 生态学报, 2016, 36(11): 3372-3380.

[5] Committee Report. Soil science in relation to water resources development: III. soil moisture conservation. Soil Sci. Soc. Amer. Proc., 1969, 33: 480-482.

[6] 朱守谦. 喀斯特森林生态研究Ⅰ. 贵阳: 贵州科学技术出版社, 1993.

[7] 郭柯, 刘长成, 董鸣. 我国西南喀斯特植物生态适应性与石漠化治理. 植物生态学报, 2011, 35(10): 991-999.

[8] Shen W J, Reynolds J F, Hui D F. Responses of dry land soil respiration and soil carbon pool size to abrupt vs. gradual and individual vs. combined changes in soil temperature, precipitation, and atmospheric[CO_2]: a simulation analysis. Global Change Biology, 2009, 15(9): 2274-2294.

[9] Solomon S, Qin D, Manning M, Chen Z, Marquis M, Averyt M B, Tignor M, Miller H L. Climate Change 2007: The Physical Science Basis. Cambridge: Cambridge University Press, 2007.

[10] 吴绍洪, 赵宗慈. 气候变化和水的最新科学认知. 气候变化研究进展, 2009, 5(3): 125-133.

[11] 陈佳, 史志华, 李璐, 罗璇. 小流域土层厚度对土壤水分时空格局的影响. 应用生态学报, 2009, 20(7): 1565-1570.

[12] 王勇, 梁宗锁, 龚春梅, 韩蕊莲, 于靖. 干旱胁迫对黄土高原 4 种蒿属植物叶形态解剖学特征的影响. 生态学报, 2014, 34(16): 4535-4548.

[13] Dunlap J M, Stettler R F. Variation in leaf epidermal and stomatal traits of *Populus trichocarpa* from two transects across the Washington Cascades. Canadian Journal of Botany, 2001, 79(5): 528-536.

[14] Fu Q S, Yang R C, Wang H S, Zhao B, Zhou C L, Ren S X, Guo Y D. Leaf morphological and ultrastructural performance of eggplant (*Solanum*

melongena L.) in response to water stress. Photosynthetica, 2013, 51(1): 109-114.
[15] Xu Z Z, Zhou G S. Responses of leaf stomatal density to water status and its relationship with photosynthesis in a grass. Journal of Experimental Botany, 2008, 59(12): 3317-3325.
[16] Zhao W S, Sun Y L, Kjelgren R, Liu X P. Response of stomatal density and bound gas exchange in leaves of maize to soil water deficit. Acta Physiologiae Plantarum, 2015, 37(1): 1-9.
[17] Sam O, Jeréz E, Dell'Amico J, Ruiz-Sanchez M C. Water stress induced changes in anatomy of tomato leaf epidermes. Biologia Plantarum, 2000, 43(2): 275-277.
[18] Scoffoni C, Rawls M, Mckown A, Cochard H, Sack LDecline of leaf hydraulic conductance with dehydration: relationship to leaf size and venation architecture. Plant Physiology, 2011, 156(2): 832-843.
[19] Brodribb T J, Feild T S. Leaf hydraulic evolution led a surge in leaf photosynthetic capacity during early angiosperm diversification. Ecology Letters, 2010, 13(2): 175-183.
[20] 宋丽清, 胡春梅, 侯喜林, 石雷, 刘立安, 杨景成, 姜闯道. 高粱、紫苏叶脉密度与光合特性的关系. 植物学报, 2015, 50(1): 100-106.
[21] Nardini A, Salleo S. Water stress-induced modifications of leaf hydraulic architecture in sunflower: co-ordination with gas exchange. Journal of Experimental Botany, 2005, 56(422): 3093-3101.
[22] 曹娟云, 刘世鹏, 白重炎, 陈宗礼. 干旱胁迫条件下狗头枣叶片解剖学结构比较研究. 安徽农业科学, 2008, 36(8): 3310-3311.
[23] 张翠萍. 氮、磷对核桃苗木水分代谢的影响[D]. 北京: 中国林业科学研究院, 2014.
[24] 耿玉华. 多年生四倍体黑麦草. 农业知识, 2000(6): 38-39.
[25] De Araujo M R A, 田有凤. 苇状羊茅种质农艺性状的遗传变异和相关. 草原与草坪, 1985(1): 31-33.
[26] 魏宝祥. 苇状羊茅在昆明地区的引种及种性研究初报. 云南农业大学学报, 2002, 17(3): 303-306.
[27] 唐成斌, 吴佳海, 蒋明凤. 贵州喀斯特地区牧草引种试验评价. 草业科学, 2003, 20(12): 39-42.
[28] 杜继琼. 三种冷季型草坪草抗旱性研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2007.
[29] Weyers J D B, Johansen L G. Accurate estimation of stomatal aperture from silicone rubber impressions. New Phytologist, 1985, 101(1): 109-115.
[30] Graham J D, Bergmann D C, Berry J A. An integrated model of stomatal development and leaf physiology. New Phytologist, 2014, 201(4): 1218-1226.
[31] Sack L, Scoffoni C. Leaf venation: structure, function, development, evolution, ecology and applications in the past, present and future. New Phytologist, 2013, 198(4): 983-1000.
[32] 蔡海霞, 吴福忠, 杨万勤. 干旱胁迫对高山柳和沙棘幼苗光合生理特征的影响. 生态学报, 2011, 31(9): 2430-2436.
[33] 曾旭, 陈芳清, 许文年, 王建柱. 向家坝工程扰动区6种先锋草本植物的光合生理特性比较. 中国水土保持, 2010(12): 19-22.
[34] 杨志民. 不同光照强度对冷季型草坪草越夏的影响[D]. 北京: 北京林业大学, 2006.
[35] 姚春艳. 果林下十种牧草的适应性比较研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2011.
[36] 中华人民共和国水利部. SL 424-2008 旱情等级标准. 北京: 中国水利水电出版社, 2009.
[37] Mcconnaughay K D M, Bazzaz F A. Is physical space a soil resource? Ecology, 1991, 72(1): 94-103.
[38] Hess L, De Kroon H. Effects of rooting volume and nutrient availability as an alternative explanation for root self/non-self discrimination. Journal of Ecology, 2007, 95(2): 241-251.
[39] Von Felten S, Schmid B. Complementarity among species in horizontal versus vertical rooting space. Journal of Plant Ecology, 2008, 1(1): 33-41.
[40] 王学臣, 任海云, 娄成后. 干旱胁迫下植物根与地上部间的信息传递. 植物生理学报, 1992, 28(6): 397-402.
[41] 刘球, 吴际友, 李志辉. 干旱胁迫对植物叶片解剖结构影响研究进展. 湖南林业科技, 2015, 42(3): 101-104.
[42] 王晓琳, 李志强, 姜闯道, 石雷, 邢全, 刘立安. 散射光和直射光对高粱叶片光合功能的影响. 作物学报, 2012, 38(8): 1452-1459.
[43] 李海波. 水分亏缺和盐胁迫对水稻叶片气孔及其他生理性状的影响[D]. 沈阳: 沈阳农业大学, 2004.
[44] 纪文龙, 范意娟, 李辰, 魏灵芝, 姜金铸, 李冰冰, 贾文锁. 干旱胁迫下葡萄叶片气孔导度和水势动态的变化规律. 中国农业大学学报, 2014, 19(4): 74-80.
[45] 孙铁军, 苏日古嘎, 马万里, 武菊英. 10种禾草苗期抗旱性的比较研究. 草业学报, 2008, 17(4): 42-49.